(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2015 년 2 월 5 일 (05.02.2015)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2015/016494 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 36/48 (2006.01) *A61P 5/14* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2014/005966

(22) 국제출원일: 2014 년 7 월 3 일 (03.07.2014)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2013-0091208 2013 년 7 월 31 일 (31.07.2013) KR

(71) 출원인: **경상대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY)** [KR/KR]; 660-701 경상남도 진주시 진주대로 501, Gyeongsangnam-do (KR).

(72) 발명자: **안미정 (AHN, Mi Jeong)**; 660-771 경상남도 진주시 진주대로 815 번길 11, 116 동 1204 호, Gyeongsangnam-do (KR). **배지영 (BAE, Ji-Yeong)**; 660-993 경상남도 진주시 하대로 106 번길 13, 다동 301 호, Gyeongsangnam-do (KR). **심명국 (SHIM, Myeong Kuk)**; 138-916 서울시 송파구 올림픽로 203, 527 동 1304 호, Seoul (KR). **이영주 (LEE, Young Joo)**; 135-859 서울시 강남구 남부순환로 363 길 49, 1 동 909 호, Seoul (KR).

(74) 대리인: **이원희 (LEE, Won Hee)**; 135-910 서울시 강남구 테헤란로 147 성지하이츠 2 차 8 층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

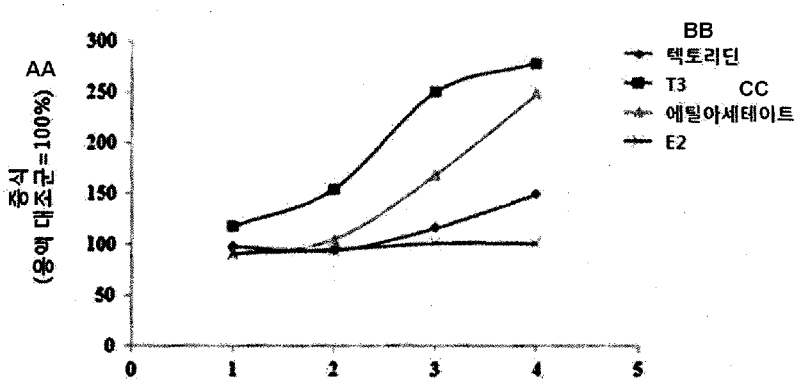
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) **Title**: COMPOSITION FOR PREVENTING AND TREATING THYROID DISEASE, CONTAINING *MAACKIA AMURENSIS* EXTRACT OR TECTORIDIN

(54) **발명의 명칭** : 다름나무 추출물 또는 텍토리딘을 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 조성물



AA ... Growth (Solution control group = 100%)
BB ... Tectoridin
CC ... Ethyl acetate

(57) **Abstract**: The present invention relates to a pharmaceutical composition and to a health food composition for preventing and treating thyroid disease, the composition containing *Maackia amurensis* (*Maackia amurensis* Rupr.) extract and a fraction thereof. More specifically, it has been confirmed that the *Maackia amurensis* extract, fraction thereof or tectoridin exhibit not only an oestrogen-like action on oestrogen receptors but also an action on thyroid hormone receptors, and thus it has been confirmed that the *Maackia amurensis* extract, the fraction thereof or the tectoridin can advantageously be used as a composition for preventing and treating thyroid disease.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2015/016494 A1

본 발명은 다릅나무(Maackia amurensis Rupr.) 추출물 및 이의 분획물을 함유하고 있는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물, 및 건강식품용 조성물에 관한 것으로서, 구체적으로 다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘이 에스트로젠 수용체에 대한 에스트로젠 유사 활성뿐만 아니라 갑상선 호르몬 수용체에 대한 활성을 나타냄을 확인함으로써, 상기 다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘이 갑상선 질환 예방 및 치료용 조성물로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

【명세서】

【발명의 명칭】

다릅나무 추출물 또는 텍토리딘을 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 조성물

【기술분야】

본 발명은 다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물, 이의 분획물 또는 텍토리딘을 함유하고 있는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물, 및 건강기능식품용 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증, 갑상선 결절을 비롯한 갑상선 종양 등의 갑상선 질환은 남성에 비해 여성에게 8 내지 10 배 정도 많이 발병하며, 8명의 여성 중 한명 꼴로 발병한다고 알려져 있다. 더욱이 최근의 진단 기술의 발전으로 그 발생 빈도가 증가하고 있다. 또한, 주요 만성질환 중 갑상선 질환이 최근 5년간 57.4%로 가장 빠르게 증가하였다. 즉, 2006년 대비 최근 5년간 주요 만성질환의 진료 환자 중 갑상선의 장애로 인한 진료 환자가 57.4%, 뇌혈관질환은 34.7%, 고혈압은 29.1%, 당뇨병 23.4%, 심장질환은 17.6% 증가하였다. 한편, 갑상선질환과 같은 내분비 및 대사성 질환은 심장질환, 당뇨 등 다른 질병에도 영향을 미치는 만큼 그 중요성이 더욱 부각되고 있으며, 관절염, 위장염, 아토피, 당뇨, 비만 등의 다빈도 질환과 비교할 경우에도 갑상선 질환의 유병률은 낮지 않으나, 활성검색을 위한 기초연구 및 관련 연구 인프라는 취약한 편이다.

갑상선 질환 중 하나인 갑상선 기능항진증은 내분비질환 중 상당히 흔한 질환으로, 여성에게서 많이 발병하는 질환이다. 상기 질환은 갑상선 기능에 이상이 생겨 갑상선 호르몬이 과잉 분비되는 상태로, 갑상선 호르몬이 대사를 촉진해 에너지를 과도하게 소모시키기 때문에 피로감, 전신쇠약 및 체중감소

등의 현상이 나타나게 된다. 이러한 갑상선 기능항진증의 치료 방법으로는 약물 치료, 방사성 요오드 치료법, 수술 치료법 등이 사용되고 있다.

그러나, 갑상선 기능항진증의 치료를 위해 약물을 복용할 경우, 2 내지 3개월 이상 투약해야 하고, 백혈구 감소증이나 간염 등의 심한 부작용을 동반하기도 하는 단점이 있다. 또한, 방사선 요오드 치료법은, 방사성 요오드를 섭취할 경우 오히려 평생 투약이 필요한 갑상선 기능저하증을 불러오는 부작용이 존재하며, 임신한 여성의 경우 방사성 요오드가 태반을 통과하여 태아의 갑상선을 파괴하는 문제가 있다. 한편, 수술 치료법은 입원이 필수적이고 비용이 많이 들며, 합병증이 생길 수도 있어 선택하지 않는 추세이다.

일반적으로 신약 개발 실패요인의 13 내지 25%가 독성 및 안전성 문제로 나타나고 있다. 따라서 천연물 신약 개발방법이 합성방법에 비하여 상대적으로 개발 성공률이 높고, 비용이 적게 소요되는 경우가 많다. 또한, 우리나라는 전통 동양의학에 대한 지식이 풍부하고, 한약재와 같은 천연물질에 대한 임상경험과 지식이 서구 선진국에 비교하여 상대적인 우위를 확보하고 있다.

이중 갑상선 기능항진증 시장은 2010년 37,500,000 달러 규모로, 상대적으로 낮은 성장률인 2.9%로, 2017년에는 45,900,000 달러로 전망되고 있다. 현재 갑상선 기능항진증 시장에는 제네릭 의약품이 많이 차지하고 있고, 승인된 약품이 부족한 실정으로 새로운 약물의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.)는 콩과에 속하는 낙엽교목으로 높이가 15 m에 달한다. 잎은 호생하며 홀수 1 회 우상복엽이고 소엽은 타원형 또는 장란형이며 짧은 점첨두이고 원저이며 길이 5 내지 8 cm로 양면에 털이 없다. 꽃차례는 가지 끝에 달리고 총상화서 또는 원추화서로서 길이 10 내지 20

cm이며 위로 향하고 꽃은 7월에 피며 지름 8 mm로서 밀착한다. 꼬투리는 넓은 선형이고 털이 없으며 길이 3.5 내지 5.0 cm, 너비 7 내지 9 mm이고 열매 꼭지는 길이 5 내지 10 mm이다. 종자는 길이 6 mm로서 신장형에 가까우며 열매는 9월에 익는다. 잎 뒷면에 털이 있고 꽃차례에 황갈색 또는 회갈색의 짧은 털이 밀생한 것을 개물푸레나무(*Maackia amurensis* Rurp. var. *buergeri* (Maxim.) C.K.Schneid.)라고 한다. 각지의 깊은 산골짜기에서 자라며, 줄기를 자른 단면은 심재가 흑갈색을 띄는 것이 특징이다. 다릅나무는 다름나무라고도 불리며, 쇠코둘개나무, 개박달나무, 소터래나무, 다즙나무로도 불리고 있으며, 민간에서는 선화삼이라 하여 임파선염, 임파선암, 폐암, 자궁근종, 신경쇠약, 생리불순, 편두통 등에 사용되고 있다.

다릅나무의 수피에서 시티신(cytisine), *N*-포밀시티신(formylcytisine), *N*-(3-옥소부틸)시티신(*N*-(3-oxobutyl)cytisine), [(3-하이드록시-6-피리디닐)-메틸]-시티신([(3-hydroxy-6-pyridinyl)-methyl]-cytisine), (-)-에피밥티폴린(epibaptifoline), *N*-메틸시티신(*N*-methylcytisine)과 같은 알칼로이드 성분 및 마키아플라바논(maackiaflavanone) A, 마키아플라바논 B, 마키아펜톤(maackiapentone), 마키아프테로카르판(maackiapterocarpan) A, 마키아프테로카르판 B와 같은 플라보노이드 성분들이 분리 보고되었다. 이 밖에 내분비세포 표면의 시알산(sialic acid)과 결합하는 마커로서의 다릅나무 중의 렉틴(lectin) 성분들에 대한 연구자료는 많이 보고되고 있으나, 갑상선 질환의 개선 작용과 관련된 직접적인 연구 결과는 알려진 바 없는 실정이다.

한편, 최근 들어 에스트로젠 수용체에 활성을 보이는 파이토에스트로젠(phytoestrogen)류나 유방암의 치료와 예방에 사용하는 에스트로젠 수용체 길항제인 타목시펜(tamoxifen)이 갑상선호르몬 수용체에도 작용한다는 사실이 알려지고 있다. 시장성 측면에서, 에스트로젠 및 프로게스테론을 장기 투여한 여성들의 경우, 유방암 발병률이 26% 증가한다고 밝혀져 있다. 따라서, 미국의 경우 호르몬대체요법(HRT) 시장은 170억 달러

규모로, 천연물 요법제를 비롯해 침, 식물에서 추출한 에스트로젠 유사물질인 파이토에스트로젠 등이 이 중 30%를 차지하고 있다. 국내는 연간 10만 명의 신규 폐경 질환자가 발생하고 있고 적어도 10년간 복용해야 하기 때문에 거대시장으로 형성될 가능성이 높다.

이에, 본 발명자들은 갑상선 질환 치료물질을 개발하기 위하여 노력한 결과, 다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘이 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타냄을 확인함으로써, 상기 다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘이 여성호르몬 대체제뿐만 아니라, 갑상선 질환 예방 및 치료용 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있음을 밝힘으로써, 본 발명을 완성하였다.

【발명의 상세한 설명】

【기술적 과제】

본 발명의 목적은 다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물 또는 이에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물, 및 건강기능식품을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

상기 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

또한, 본 발명은 다릅나무 추출물에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

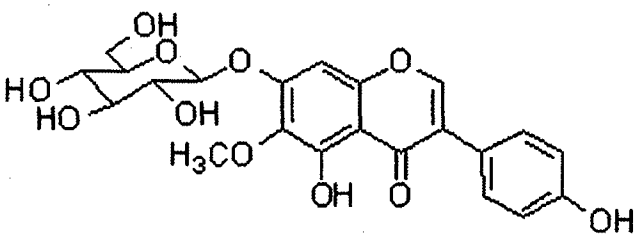
또한, 본 발명은 다릅나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환

예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

또한, 본 발명은 다릅나무 추출물에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

또한, 본 발명은 하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(Tectoridin) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 갑상선 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[화학식 1]



【유리한 효과】

본 발명의 다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물, 이의 분획물 또는 텍토리딘이 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타냄을 확인함으로써, 상기 다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘은 여성호르몬 대체제뿐만 아니라, 갑상선 질환 예방 및 치료용 조성물의 유효성분으로서 유용하게 사용될 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 다릅나무(*M. amurensis*) 줄기의 수피로부터 추출물 및 이의 분획물의 제조 과정을 나타낸 도이다.

도 2는 ERE-루시퍼라아제가 형질주입된 MCF-7 세포에서 다름나무 분획물 각각의 에스트로젠(E2) 수용체에 대한 활성을 나타낸 도이다.

도 3은 ERE-루시퍼라아제가 형질주입된 MCF-7 세포에 에스트로젠(E2 10 nM), 텍토리딘 및 에스트로젠 길항제 ICI 182,780(ICI)을 처리한 결과를 나타낸 도이다.

도 4는 에틸아세테이트 분획물(Ethylacetate Fr.) 및 텍토리딘(Tectoridin)에 의한 에스트로젠 수용체(ERα) 발현 억제를 나타낸 도이다:

β-actin: 양성 대조군;

+; 처리; 및

-; 무처리.

도 5는 TRE-루시퍼라아제가 형질주입된 GH3 세포에 T3, 에틸아세테이트 분획물, 텍토리딘, 아비산나트륨(Sodium Arsenite, As) 및 E2를 처리한 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 GH3 세포를 이용한 T-스크린 검사(T-screen assay) 결과를 나타낸 도이다:

1: 텍토리딘 200 nM, T_3 10^{-11} M, 에틸아세테이트 분획물 100 ng/ml, E_2 10^{-11} M;

2: 텍토리딘 2 μM, T_3 10^{-10} M, 에틸아세테이트 분획물 1 μg/ml, E_2 10^{-10} M;

3: 텍토리딘 20 μM, T_3 10^{-9} M, 에틸아세테이트 분획물 10 μg/ml, E_2 10^{-9} M; 및

4: 텍토리딘 200 μM, T_3 10^{-8} M, 에틸아세테이트 분획물 100 μg/ml, E_2 10^{-8} M.

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

본 발명은 다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

상기 다릅나무는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 다릅나무는 다릅나무의 줄기, 잎 또는 뿌리가 모두 이용가능하나, 다릅나무 줄기의 수피를 이용하는 것이 보다 바람직하다.

상기 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:

1) 다릅나무에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 다릅나무의 추출물을 제조하는 단계.

상기 방법에 있어서, 단계 1)의 다릅나무는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 다릅나무는 잎, 줄기 또는 뿌리가 모두 이용가능하고, 줄기의 수피를 이용하는 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

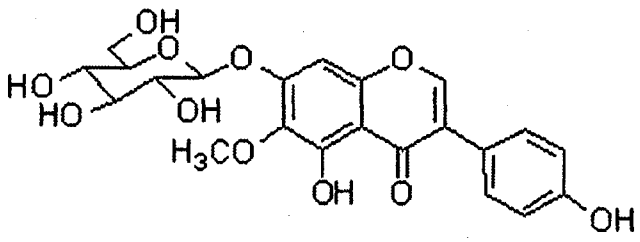
상기 방법에 있어서, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C_1 내지 C_2 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를

건조된 다릅나무 분량에 1 내지 40 배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 2 내지 3배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20℃ 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20℃ 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48 시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30 시간인 것이 더욱 바람직하고, 24 시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 아울러, 추출 회수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

상기 방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

상기 다릅나무는 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(tectoridin)을 포함하는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[화학식 1]



상기 다릅나무 추출물은 에스트로젠 수용체 및 갑상선 호르몬 수용체에 대한 활성을 가지는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것이 바람직하고, 특히 갑상선 기능항진증인 것이 더욱 바람직하나,

이에 한정되지 않는다.

또한, 본 발명은 다릅나무 추출물에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

상기 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:

1) 다릅나무에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;

3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 다릅나무의 추출물을 제조하는 단계; 및

4) 단계 3)의 다릅나무 추출물을 추가적으로 유기용매로 추출하여 다릅나무 분획물을 제조하는 단계.

상기 방법에 있어서, 단계 4)의 유기용매는 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트 또는 부탄올인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 분획물은 다릅나무 추출물을 물에 현탁시킨 후 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 또는 물 분획물 중 어느 하나인 것이 바람직하며, 에틸아세테이트 분획물임이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 분획물은 상기 다릅나무 추출물로부터 분획 과정을 1 내지 5회, 바람직하게는 3회 반복하여 수득할 수 있고, 분획 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것이 바람직하고, 특히 갑상선 기능항진증인 것이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 구체적인 실시예에서, 다릅나무 줄기의 수피를 사용하여, 추출물 및 이의 분획물을 제조하였고(도 1 참조), 에스트로젠 수용체에 대한 활성을 측정한 결과, 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물이 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타냄을 확인하였다(도 2 및 도 3 참조). 상기 에틸아세테이트 분획물로부터 생리적 활성을 보이는 단일 화합물을 순수 분리한 결과, 텍토리딘(tectoridin)을 분리하였고(화학식 1 참조), 에스트로젠 수용체에 대한 활성 검사 결과, 텍토리딘이 양성대조군인 에스트로젠(E2)과 유사한 효과를 지님을 확인하였다(도 3 참조). 또한, 텍토리딘 및 다릅나무 에틸아세테이트 분획물의 에스트로젠 수용체(ERα)에 대한 활성을 정량적으로 분석한 결과, 텍토리딘과 에틸아세테이트분획물이 에스트로젠(E2)과 유사하게 에스트로젠 수용체의 발현을 억제함을 확인하였다(도 4 참조). 한편, 갑상선호르몬(T3) 수용체에 대한 활성을 T-스크린 검사를 통해 측정한 결과, 텍토리딘 및 에틸아세테이트 분획물의 갑상선호르몬 유사 작용을 확인하였고, 갑상선호르몬 수용체의 길항제인 As를 함께 처리한 경우에는 활성 증가가 억제됨을 확인함으로써, 텍토리딘 및 에틸아세테이트 분획물이 모두 갑상선호르몬이 작용하는 수용체에 경쟁적으로 작용함을 확인하였다(도 5 참조). 또한, 에틸아세테이트 분획물은 갑상선 호르몬과 유사하게 GH3 세포의 증식을 촉진시키므로, 갑상선관련 질환의 개선을 위해서 에틸아세테이트 분획물을 이용하는 것이 더욱 효과적임을 확인하였다(도 6 참조).

따라서, 본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물은 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타냄을 확인함으로써, 본 발명의 다릅나무 추출물, 또는 이의 분획물이 여성호르몬 유사작용 및 갑상선 기능항진 예방 및 치료용 약학적 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염, 완충제 등의 약학적 보조제 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있다.

경구 투여용 제형으로는 예를 들어 정제, 환제, 경질 및 연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제 등의 약학적 첨가제를 함유할 수 있다. 정제는 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다. 또한 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다.

또한, 본 발명의 조성물은 기존의 치료제와 병합 투여될 수 있으며, 이 경우 동시 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 표면에 전달하는 임의의 방식으로 개체에게 투여될 수 있다. 적합한 비경구 투여경로는 혈관 내 투여(예: 정맥 내 볼루스 주사, 정맥 내 주입, 동맥 내 볼루스 주사, 동맥 내 주입, 맥관 내로의 카테터 점적 주입), 피하 주입을 포함하는 피하 주사 또는 침착(deposition)(예: 삼투압 펌프 이용), 조직 주위 및 조직 내 투여 또는 침착 등을 포함한다.

본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 성별, 연령, 건강상태, 체중, 투여 방법과 횟수, 표적 조직이나 세포 등 다양한 요인을 고려하여 당 분야의

전문가들에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 각 치료에 요구되는 총 용량은 수회 용량 또는 일회량으로 투여될 수 있다.

또한, 본 발명은 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

상기 다릅나무 추출물은 에스트로젠 수용체 및 갑상선 호르몬 수용체에 대한 활성을 가지는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

상기 분획물은 다릅나무 추출물을 물에 현탁시킨 후 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 중 어느 하나인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는 에틸아세테이트 분획물인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것이 바람직하고, 특히 갑상선 기능항진증인 것이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물은 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타냄을 확인함으로써, 본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물이 여성호르몬 유사작용 및 갑상선 기능항진 개선용 건강기능식품용 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

본 명세서의 "건강기능식품"이란 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분 (기능성원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품으로 식품의약품안전처장이 정한 것을 의미하나, 이에

한정되지 않으며 통상적인 의미의 건강식품을 배제하는 의미로 사용된 것이 아니다.

본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 단당류, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 이당류, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 다당류, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 g 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

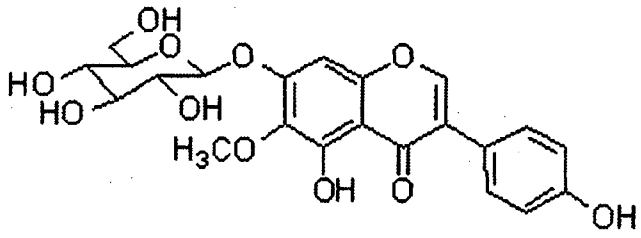
상기 외에 본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염,

유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

또한 본 발명은 하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(Tectoridin), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[화학식 1]



또한, 상기 텍토리딘은 다릅나무 추출물 또는 이의 분획물로부터 분리된 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않으며, 다른 동물체, 식물체, 또는 미생물로부터 분리된 화합물, 또는 당업계에 알려진 모든 방법을 통하여 인위적으로 합성된 것을 포함한다.

상기 다릅나무는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 다릅나무는 다릅나무의 줄기, 잎 또는 뿌리가 모두 이용가능하나, 다릅나무 줄기의 수피를 이용하는 것이 보다 바람직하다.

상기 추출물은 하기의 단계들을 포함하는 제조 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:

1) 다릅나무에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계; 및

3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 다릅나무의 추출물을 제조하는 단계.

또한, 상기 분획물은 하기의 단계들을 포함하는 제조 방법에 의해 제조되는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다:

1) 다릅나무에 추출용매를 가하여 추출하는 단계;

2) 단계 1)의 추출물을 여과하는 단계;

3) 단계 2)의 여과한 추출물을 감압 농축한 후 건조하여 다릅나무의 추출물을 제조하는 단계; 및

4) 단계 3)의 다릅나무 추출물을 추가적으로 유기용매로 추출하여 다릅나무 분획물을 제조하는 단계.

상기 방법에 있어서, 단계 1)의 다릅나무는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다. 상기 다릅나무는 잎, 줄기 또는 뿌리가 모두 이용가능하고, 줄기의 수피를 이용하는 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

상기 방법에 있어서, 상기 단계 1)의 추출용매는 물, 알코올 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 상기 알코올로는 C_1 내지 C_2 저급 알코올을 이용하는 것이 바람직하며, 저급 알코올로는 에탄올 또는 메탄올을 이용하는 것이 바람직하다. 추출방법으로는 진탕추출, Soxhlet 추출 또는 환류 추출을 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 상기 추출용매를 건조된 다릅나무 분량에 1 내지 40 배 첨가하여 추출하는 것이 바람직하고, 2

내지 3배 첨가하여 추출하는 것이 더욱 바람직하다. 추출온도는 20℃ 내지 100℃ 인 것이 바람직하고, 20℃ 내지 40℃인 것이 더욱 바람직하고, 실온인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 추출시간은 10 내지 48 시간인 것이 바람직하며, 15 내지 30 시간인 것이 더욱 바람직하고, 24 시간인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 아울러, 추출 회수는 1 내지 5회인 것이 바람직하며, 3 내지 4회 반복 추출하는 것이 더욱 바람직하고, 3회인 것이 가장 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

상기 방법에 있어서, 단계 3)의 감압농축은 진공감압농축기 또는 진공회전증발기를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 건조는 감압건조, 진공건조, 비등건조, 분무건조 또는 동결건조하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

상기 방법에 있어서, 단계 4)의 유기용매는 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트 또는 부탄올인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 분획물은 다릅나무 추출물을 물에 현탁시킨 후 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 또는 물 분획물 중 어느 하나인 것이 바람직하며, 에틸아세테이트 분획물임이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 분획물은 상기 다릅나무 추출물로부터 분획 과정을 1 내지 5회, 바람직하게는 3회 반복하여 수득할 수 있고, 분획 후 감압 농축하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 상기 화학식 1의 텍토리딘은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시

알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산, 아세트산, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법, 예를 들면, 화학식 1의 유도체를 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조하여 제조되거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조하거나 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물

염을 여과하고, 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로는 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 음염(예, 질산은)과 반응시켜 얻는다.

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 텍토리딘 및 이의 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물, 수화물 등을 모두 포함한다.

상기 텍토리딘은 에스트로젠 수용체 및 갑상선 호르몬 수용체에 대한 활성을 가지는 것일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것이 바람직하고, 특히 갑상선 기능항진증인 것이 더욱 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

본 발명의 구체적인 실시예에서, 상기 다릅나무 에틸아세테이트 분획물을 클로로포름에 녹인 후 메탄올을 가하고 상온에서 방치하여 황백색의 결정을 얻었고, 이를 다시 클로로포름에 녹이고 메탄올로 재결정을 실시하여 순수 텍토리딘(tectoridin) 화합물을 분리하였다 (화학식 1 참조).

또한 본 발명의 구체적인 실시예에서, 상기 텍토리딘(tectoridin)의 에스트로젠 수용체에 대한 활성 검사 결과, 텍토리딘이 양성대조군인 에스트로젠(E2)과 유사한 효과를 지님을 확인하였다(도 3 참조). 또한, 텍토리딘 및 다릅나무 에틸아세테이트 분획물의 에스트로젠 수용체(ERα)에 대한 활성을 정량적으로 분석한 결과, 텍토리딘과 에틸아세테이트 분획물이 에스트로젠(E2)과 유사하게 에스트로젠 수용체의 발현을 억제함을 확인하였다(도 4 참조). 한편, 갑상선호르몬(T3) 수용체에 대한 활성을

T-스크린 검사를 통해 측정한 결과, 텍토리딘 및 에틸아세테이트 분획물의 갑상선호르몬 유사 작용을 확인하였고, 갑상선호르몬 수용체의 길항제인 As를 함께 처리한 경우에는 활성 증가가 억제됨을 확인함으로써, 텍토리딘 및 에틸아세테이트 분획물이 모두 갑상선호르몬이 작용하는 수용체에 경쟁적으로 작용함을 확인하였다(도 5 참조). 또한, 에틸아세테이트 분획물 및 텍토리딘은 갑상선 호르몬과 유사하게 GH3 세포의 증식을 촉진시킴을 확인하였다(도 6 참조).

따라서, 본 발명의 텍토리딘은 에스트로젠 및 갑상선 수용체에 대한 유의적인 활성을 나타내었으므로, 본 발명의 텍토리딘 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 여성호르몬 유사작용 및 갑상선 기능항진 예방 및 치료용 약학적 조성물 및 갑상선 기능항진 개선용 건강기능식품 조성물로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염, 완충제 등의 약학적 보조제 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 함유할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 다양한 경구 또는 비경구 투여 형태로 제형화할 수 있다.

경구 투여용 제형으로는 예를 들어 정제, 환제, 경질 및 연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 또한 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제, 및 감미제 등의 약학적 첨가제를 함유할 수 있다. 정제는

통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다. 또한 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다.

또한, 본 발명의 조성물은 기존의 치료제와 병합 투여될 수 있으며, 이 경우 동시 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 표면에 전달하는 임의의 방식으로 개체에게 투여될 수 있다. 적합한 비경구 투여경로는 혈관 내 투여(예: 정맥 내 볼루스 주사, 정맥 내 주입, 동맥 내 볼루스 주사, 동맥 내 주입, 맥관 내로의 카테터 점적 주입), 피하 주입을 포함하는 피하 주사 또는 침착(deposition)(예: 삼투압 펌프 이용), 조직 주위 및 조직 내 투여 또는 침착 등을 포함한다.

본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 성별, 연령, 건강상태, 체중, 투여 방법과 횟수, 표적 조직이나 세포 등 다양한 요인을 고려하여 당 분야의 전문가들에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 각 치료에 요구되는 총 용량은 수회 용량 또는 일회량으로 투여될 수 있다.

본 명세서의 "건강기능식품"이란 일상 식사에서 결핍되기 쉬운 영양소나 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분 (기능성원료)을 사용하여 제조한 것으로, 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 식품으로 식품의약품안전처장이 정한 것을 의미하나, 이에 한정되지 않으며 통상적인 의미의 건강식품을 배제하는 의미로 사용된 것이 아니다.

상기 건강기능식품은 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조, 가공될 수 있으나, 이에 한정되지 않으며 법률에 따라 어떤 형태로든지 제조, 가공될 수 있다.

본 발명의 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적 (예방 또는 개선용)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 중의 상기 화합물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

상기 외에 본 발명의 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

이하, 본 발명을 실시예 및 제조예에 의하여 상세히 설명한다.

단, 하기 실시예 및 제조예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예 및 제조예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 다릅나무 추출물 및 분획물의 제조

경동시장으로부터 다릅나무의 가지(줄기)를 구입하여 가지의 코르크층을 제거한 수피만을 모아 분말로 파쇄한 다음, 상기 분말 52 g을 취하여 70% 에탄올 500 ml에 넣어 초음파 추출장치로 90 분간 2회 추출하였다. 추출액을 5,000 rpm, 4℃에서 10 분 동안 원심분리한 다음, 상등액을 감압건조하여 다릅나무 추출물(13 g)을 얻었다. 이 추출물에 물을 추가하여 현탁시킨 후, 헥산 400 ml로 3회 분획하여 헥산 분획물 340 mg을 수득하였다. 그런 다음 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올 순으로 분획하여, 각각의 분획물 180, 300, 560 mg을 얻었고, 최종적으로 물층을 수득하였다(도 1).

<실시예 2> 실험재료 및 기기

상기 <실시예 1>과 같은 방법으로 수득한 다릅나무 추출물, 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 및 물 분획물을 하기 실시예에서 이용하였다.

구체적으로, 다릅나무 추출물 및 이의 분획물, 텍토리딘을 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹여 사용하였으며 DMSO의 최종농도가 0.4% 이하가 되도록 하여 검사에 사용하였다. 17β-에스트라디올(17β-estradiol; E_2)과 RPMI, ICI 182,780, 아비산나트륨(Sodium Arsenite; As)은 시그마(Sigma, St.

Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, FCS(fetal calf serum), 항생제 페니실린(penicillin) 및 스트렙토마이신(streptomycin)은 깁코 인비트로젠(Gibco Invitrogen, Grand Island, NY, USA)으로부터 구입하였다. 구체적으로 폴리에틸렌이민(Polyethylene imine; PEI; Poly-Sciences, Warrington, PA, USA)을 사용하여 MCF-7 세포 내에 플라스미드를 형질주입시켰으며, 약물 처리가 끝난 세포를 PBS로 세척하고 용해(lysis) 완충용액(125 mM Tris pH 7.8, 10 mM CDTA, 10 mM DTT, 50% 글리세롤(glycerol), 5% 트리톤(Triton) X-100을 넣고 -70℃에서 30 분간 방치한 후 빠르게 37℃ 항온수조에 띄워 세포를 파괴한 후 상층액을 취하여 브래드포드 방법을 사용하여 단백질을 정량하였다. 루시퍼라아제 활성은 20 μl의 세포추출물에 5 μl의 루시퍼라아제 검사 반응물(luciferase assay system, Promega Corp., Madison, WI, USA)을 혼합하여 처리한 다음 24 시간, 48 시간 후에 AutoLumat LB953 luminometer(Berthold Technologies, Wildbad, Germany)를 사용하여 측정하였다. 세 번 실험을 반복하여 결과값을 얻었으며, 그 결과는 평균 ± 평균의 표준오차(standard error of the mean; S.E.M.)로 나타내었다.

<실시예 3> 세포 배양

에스트로젠 수용체 검사(estrogen receptor assay)에서는 유방암 세포주인 MCF-7(Human breast adenocarcinoma) 세포주를 사용하였고, T-스크린 검사(screen assay)에서는 흰쥐의 뇌하수체 세포인 GH3(Rat pituitary tumour) 세포주를 이용하였다. MCF-7 세포주는 10% 우태아혈청(fetal calf serum; FBS)을 함유하는 RPMI에서 배양하였으며, GH3 세포주는 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)에 10% 우태아혈청을 첨가하여 배양하였다. 세포는 5%(v/v) CO_2를 포함하는 습한 대기 조건의 37℃ 환경에서 자라도록 하였다. 배지는 1 내지 2일 간격으로 교환하고 시약을 처리할 때 새 배지로 갈아주었으며, 시료를 처리할 때에는 최소 24 시간 이상 석탄으로 처리한 혈청을 사용한 배지에서 배양한 후 시료를 처리하였다. 대조군에는 에탄올 용매를 처리하였다.

<실시예 4> 다릅나무 분획물의 에스트로젠 수용체에 대한 활성 측정

다릅나무 추출물로부터 순차적으로 계통 분획하여 수득한 분획물의 에스트로젠 수용체에 대한 활성 정도를 확인하기 위하여, 상기 <실시예 3>의 유방암 세포를 이용하여 에스트로젠 수용체 검사를 실시하였다.

구체적으로, 유방암 세포 MCF-7에 에스트로젠 수용체 효능제(agonist)인 17β-에스트라디올(estradiol)(E_2)을 대조군으로 하여 상기 <실시예 2>와 같은 방법으로 시료의 에스트로젠 수용체 활성을 관찰하였다.

그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 다릅나무의 추출물과 각 유기용매로 분획하여 얻은 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물, 물 분획물을 100 μg/ml로 처리한 결과, 에틸아세테이트 분획물과 부탄올 분획물이 다른 분획물에 비해서 에스트로젠 수용체 알파 의존적인 전사활성의 유의한 증가를 보여주었다. 한편, 부탄올 분획물의 경우에는 양성대조군인 E2와 비슷한 활성을 보여주었으나 총 추출물보다는 활성이 낮은 반면, 에틸아세테이트 분획물의 경우에는 그 활성이 총 추출물과 유사하였으며, E2의 일반적인 실험 농도인 10 nM에서보다 1.6 배 높은 활성을 보여주었다(도 2).

<실시예 5> 다릅나무 에틸아세테이트 분획물로부터 텍토리딘(tectoridin)의 분리

상기 <실시예 4>에서 에스트로젠 수용체에 가장 강한 활성, 특히 총 추출물보다도 높은 활성을 보인 에틸아세테이트 분획물에 대하여, 생리 활성을 나타내는 단일화합물의 분리를 시도하였다.

구체적으로, 에틸아세테이트 분획물을 소량의 클로로포름에 녹인 다음 메탄올 100 ml를 가한 후 상온에서 이틀간 방치하여 황백색의 결정을 얻었고

이를 다시 소량의 클로로포름에 녹인다음 메탄올로 재결정을 실시하여 30 mg의 순수 화합물을 분리하였다. 이 화합물의 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{13}C COSY-NMR, FAB-MS 등의 분광학적 데이터는 하기와 같다:

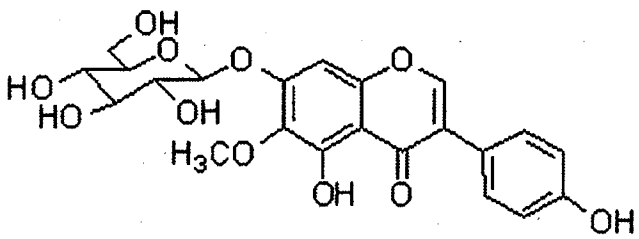
HREI-MS $[M]^{+}$: *m/z* 462.1157(calcd. for $C_{22}H_{22}O_{11}$, 462.1163);

^{1}H-NMR(DMSO-d_6 + D_2O, 500 MHz): δ 8.37(s, H-2), 6.86(s, H-8), 7.38(d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.83(d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 5.08(d, J = 7.5 Hz, H-1"), 3.34(m, H-2"), 3.33(m, H-3"), 3.19(m, H-4"), 3.45(m, H-5"), 3.47(m, H-6"a), 3.68(m, H-6"b);

^{13}C-NMR(DMSO-d_6 + D_2O, 125 MHz): δ 154.9(C-2), 122.5(C-3), 181.1(C-4), 152.9(C-5), 132.7(C-6), 156.8(C-7), 94.5(C-8), 152.9(C-9), 106.8(C-10), 121.5(C-1'), 130.5(C-2',6'), 115.4(C-3',5'), 157.6(C-4'), 60.7(6-OCH_3), 100.5(C-1"), 73.3(C-2"), 76.5(C-3"), 69.9(C-4"), 77.1(C-5"), 60.9(C-6").

이상의 분광학적 데이터를 바탕으로, 에틸아세테이트 분획물에 대하여 생리 활성을 나타내는 단일화합물은 화학식 1과 같이 표시되는 이소플라본(isoflavone)의 한 종류인 텍토리딘(tectoridin)으로 동정하였다(화학식 1)(Park et al., *Phytochemistry*, 51, 147-151).

【화학식 1】



<실시예 6> 텍토리딘의 에스트로젠 수용체에 대한 활성 확인

다릅나무의 에틸아세테이트 분획물에서 분리한 텍토리딘에 대하여,

에스트로젠 수용체에 대한 활성을 확인하기 위해 에스트로젠 수용체 검사를 수행하였다.

구체적으로, 에스트로젠 수용체 검사는 상기 <실시예 4>에 나타낸 바와 같이 수행하였다. 유방암 세포주인 MCF-7 세포에 에스트로젠 수용체와 루시퍼라아제를 발현하는 유전자를 포함하는 플라스미드를 형질주입한 다음, 상기 세포에 텍토리딘을 20 μM씩 처리하고 24 시간 후에 루시퍼라아제(luciferase) 활성을 측정하였다.

그 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이, 텍토리딘은 E2와 같이 에스트로젠 수용체에 대한 알파(ERα) 의존적인 전사 활성을 증가시킴을 확인하였다. 또한, 에스트로젠 수용체 길항제인 ICI 182,780(ICI)을 함께 처리하였을 경우에는 텍토리딘에 의해 증가된 에스트로젠 수용체 알파의 의존적인 전사 활성이 억제됨으로써, 텍토리딘이 에스트로젠(E2)과 동일한 에스트로젠 수용체에 작용함을 확인하였다(도 3).

<실시예 7> 에스트로젠 수용체에 대한 텍토리딘 활성의 정량적 확인

에스트로젠 수용체에 대하여 에스트로젠(E2)과 유사한 활성이 있는 텍토리딘 및 상기 <실시예 1>에 의해 수득한 다릅나무 에틸아세테이트 분획물에 대하여, 그 에스트로젠 수용체에 대한 활성 정도를 정량적으로 확인하기 위하여 웨스턴 블럿을 각각 수행하였다.

구체적으로, MCF-7 세포주에 에틸아세테이트 분획물의 최종 농도가 100 μg/ml 이 되도록 처리하고, 텍토리딘의 최종농도가 200 μM이 되도록 처리하여 24 시간 후에 에스트로젠 수용체의 발현수준을 웨스턴 블럿을 통해 분석하였다. 우선, 단백질을 추출하기 위하여 세포에 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl(pH 8.0), 1% NP40, 1 mM 아프로티닌(aprotinin), 0.1 mM 류펩틴(leupeptin), 1 mM 펩스타인(pepstatin)이 함유된 용액을 첨가한 후

분쇄한 후 얼음에서 1 시간 동안 반응시켰고, 이를 4℃에서 13,000 rpm으로 25 분 동안 원심분리한 후 상등액을 분리하여 수득하였다. 그런 다음, 브래드포드(Bradford) 방법을 사용하여 단백질을 정량하였다. 상기와 같은 방법으로 분리된 단백질을 20 μg씩 8% SDS-PAGE 젤에서 전기영동한 후 PVDF 멤브레인으로 단백질을 전이하기 위해, 전력공급장치(power supply basic, Bio-rad)를 이용하여 350 mA에서 1 시간 동안 블럿팅(blotting)한 후 단백질이 전이된 멤브레인을 5% 탈지분유(non-fat dry milk)에 넣고 1 시간 동안 반응시켰다. 블락킹 완충용액(blocking buffer)을 제거한 다음 멤브레인을 1차 항체(ERα; 1:1000, β-액틴(actin); 1:4000)를 5% 탈지분유와 TBST로 만든 완충용액에 섞은 용액에 담고 16 시간 동안 반응시켰다. TBST에 5 분씩 3 번 세척한 다음 2차 항체 항-토끼(Invitrogen, USA, dilution 1:4000) 또는 항-마우스(Invitrogen, USA, dilution 1:4000)가 첨가된 5% 탈지분유 조건에서 1 시간 동안 반응시키고 TBST로 비특이성 결합을 제거한 후, ECL 키트(Amersham Bioscience, Little Chalfont, UK)로 단백질의 발현을 관찰하였다.

그 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 에틸아세테이트 분획물이 에스트로겐(E2)(10 nM)과 동일하게 에스트로겐 수용체 발현을 억제함을 확인하였으며, 텍토리딘 또한 에틸아세테이트 분획물과 비슷한 수준으로 에스트로겐 수용체 알파의 발현을 억제하였다(도 4).

<실시예 8> 에틸아세테이트 분획물 및 텍토리딘의 갑상선호르몬 수용체와 GH3 세포증식에 미치는 영향

에스트로겐 수용체에 활성을 갖는 다릅나무 에틸아세테이트 분획물 및 텍토리딘의 갑상선 수용체에 대한 활성을 측정하기 위하여, 흰쥐의 뇌하수체 세포주인 GH3 세포를 이용해서 T-스크린 검사(screen assay)를 수행하였다.

구체적으로, GH3 세포에 갑상선 호르몬 반응 수용체(thyroid hormone responsive reporter) 유전자인 TRE-Luc를 0.5 μg씩 형질주입한 다음, 갑상선

호르몬인 T3(10^{-8} M), 에틸아세테이트 분획물(100 μg/ml), 텍토리딘(200 μM), As(sodium arsenite)(10 μM), E2(10 nM)를 24 시간 동안 처리하였다. 96 웰 플레이트(well plate)에 GH3 세포 부유액을 0.4×10^4 세포/웰(well) 농도로 넣어주고, 하루 동안 배양한 후 배지를 교환한 후 약물을 처리하였다. 약물 처리 3일 후 WST-1 10 μl/웰 처리하였다. 1 시간 동안 배양한 다음 ELISA leader(450 nm, reference 630 nm)에서 수치를 측정하였다.

그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이, 에스트로젠(E2)를 처리하였을 경우에는 대조군에 비교하여 루시퍼라아제(TRE-luc)의 활성에 큰 변화가 없었다. 그러나, 에틸아세테이트 분획물 또는 텍토리딘을 처리하였을 경우에는 모두 에스트로젠의 결과와는 달리 루시퍼라아제(TRE-luc)의 활성이 2.5 배 이상 증가하였으며, 이 수용체의 길항제인 As를 함께 처리한 경우에는 활성 증가가 억제됨으로써, 에틸아세테이트 분획물 및 텍토리딘 모두 갑상선호르몬이 작용하는 수용체에 경쟁적으로 작용함을 확인하였다(도 5).

또한, 도 6에 나타낸 바와 같이, 뇌하수체 세포주인 GH3 세포에 갑상선 호르몬인 T3(10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M)와 에틸아세테이트 분획물(100 ng/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml), 텍토리딘(200 nM, 2 μM, 20 μM, 200 μM), E2(10^{-11} M, 10^{-10} M, 10^{-9} M, 10^{-8} M)를 24 시간 동안 처리하여 GH3 세포의 증식을 비교하였을 경우, 갑상선 호르몬(T_3)은 GH3 세포 증식을 촉진시킨 반면, 에스트로젠(E2)은 세포 증식에 영향을 미치지 않았다. 반면에, 에틸아세테이트 분획물과 텍토리딘이 갑상선 호르몬과 유사하게 GH3 세포의 증식을 촉진시킴을 확인하였다 (도 6).

<제조예 1> 약제의 제조

<1-1> 산제의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
유당	1 g

상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

<1-2> 정제의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<1-3> 캡슐제의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
옥수수전분	100 mg
유당	100 mg
스테아린산 마그네슘	2 mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<1-4> 주사제의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
만니톨	180 mg
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	26 mg
증류수	2974 mg

통상적인 주사제의 제조방법에 따라, 상기 성분들을 제시된 함량으로 함유시켜 주사제를 제조하였다.

<제조예 2> 건강기능식품의 제조

<2-1> 건강기능식품의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
비타민 혼합물	적량
비타민 A 아세테이트	70 μg
비타민 E	1.00 mg
비타민	0.13 mg
비타민 B2	0.15 mg
비타민 B6	0.50 mg
비타민 B12	0.20 μg
비타민 C	10 mg
비오틴	10 μg
니코틴산아미드	1.70 mg
엽산	50 mg
판토텐산 칼슘	0.50 mg
무기질 혼합물	적량
황산제1철	1.75 mg
산화아연	0.82 mg
탄산마그네슘	25.30 mg
제1인산칼륨	15 mg
제2인산칼슘	55 mg
구연산칼륨	90 mg
탄산칼슘	100 mg
염화마그네슘	24.80 mg

상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

<2-2> 건강 음료의 제조

다릅나무 추출물, 이의 분획물, 또는 텍토리딘	100 mg
구연산	1000 mg
올리고당	100 g
매실농축액	2 g
타우린	1 g
정제수를 가하여 전체	900 mℓ

통상의 건강 음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 건강 음료 조성물 제조에 사용하였다.

상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

다릅나무(*Maackia amurensis* Rupr.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 추출물은 물, C_1~C_2의 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 3】

제 2항에 있어서, 상기 저급 알코올은 에탄올 또는 메탄올인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 4】

제 1항에 있어서, 상기 다릅나무 추출물은 다릅나무 수피 추출물인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 5】

제 1항에 있어서, 상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 6】

약학적으로 유효한 양의 다릅나무 추출물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 갑상선 질환 예방 및 치료 방법.

【청구항 7】

다릅나무 추출물을 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조에 이용하기 위한 용도.

【청구항 8】

다릅나무 추출물에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 9】

제 8항에 있어서, 상기 분획물은 다릅나무 추출물을 물에 현탁시킨 후 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 10】

제 8항에 있어서, 상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 11】

약학적으로 유효한 양의 다릅나무 분획물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 갑상선 질환 예방 및 치료 방법.

【청구항 12】

다릅나무 분획물을 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물의 제조에 이용하기 위한 용도.

【청구항 13】

다릅나무 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 갑상선

질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

【청구항 14】

제 13항에 있어서, 상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

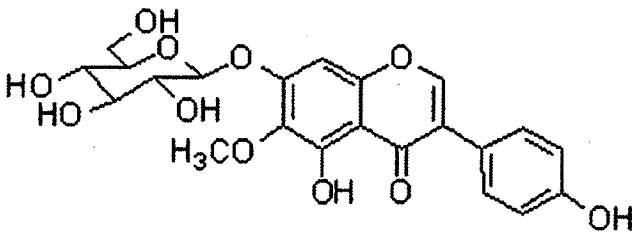
【청구항 15】

다릅나무 추출물 또는 이의 분획물을 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강식품의 제조에 이용하기 위한 용도.

【청구항 16】

하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(Tectoridin), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

[화학식 1]



【청구항 17】

제 16항에 있어서, 상기 텍토리딘(Tectoridin)은 다릅나무 추출물로부터 분리된 것인 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 18】

제 17항에 있어서, 상기 텍토리딘(Tectoridin)은 다릅나무 추출물에 추가적으로 유기용매를 가하여 제조한 분획물로부터 분리된 것인 갑상선 질환

예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 19】

제 18항에 있어서, 상기 분획물은 다릅나무 추출물을 물에 현탁시킨 후 헥산, 염화메틸렌, 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 계통 분획하여 수득한 헥산 분획물, 염화메틸렌 분획물, 에틸아세테이트 분획물, 부탄올 분획물 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 20】

제 17항에 있어서, 상기 다릅나무 추출물은 다릅나무 수피 추출물인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

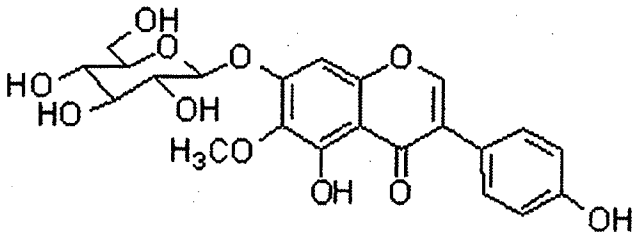
【청구항 21】

제 16항에 있어서, 상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 치료용 약학적 조성물.

【청구항 22】

약학적으로 유효한 양의 하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 갑상선 질환 예방 및 치료 방법.

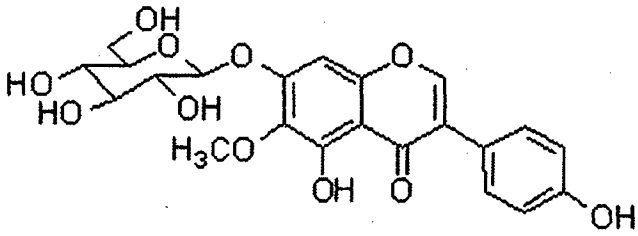
[화학식 1]



【청구항 23】

하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 갑상선 질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물의 제조에 이용하기 위한 용도.

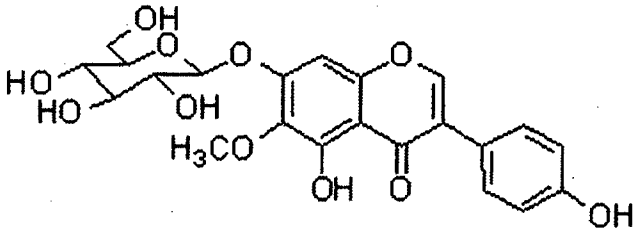
[화학식 1]



【청구항 24】

하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(Tectoridin), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

[화학식 1]



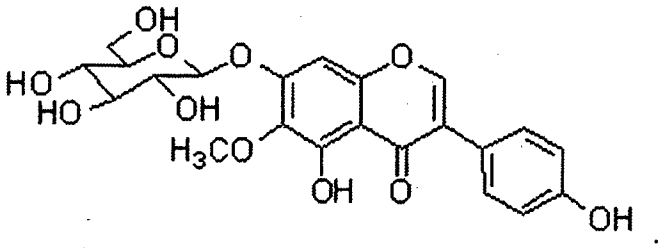
【청구항 25】

제 24항에 있어서, 상기 갑상선 질환은 갑상선 기능항진증, 갑상선 기능저하증 또는 갑상선 결절인 것을 특징으로 하는 갑상선 질환 예방 및 개선용 건강기능식품.

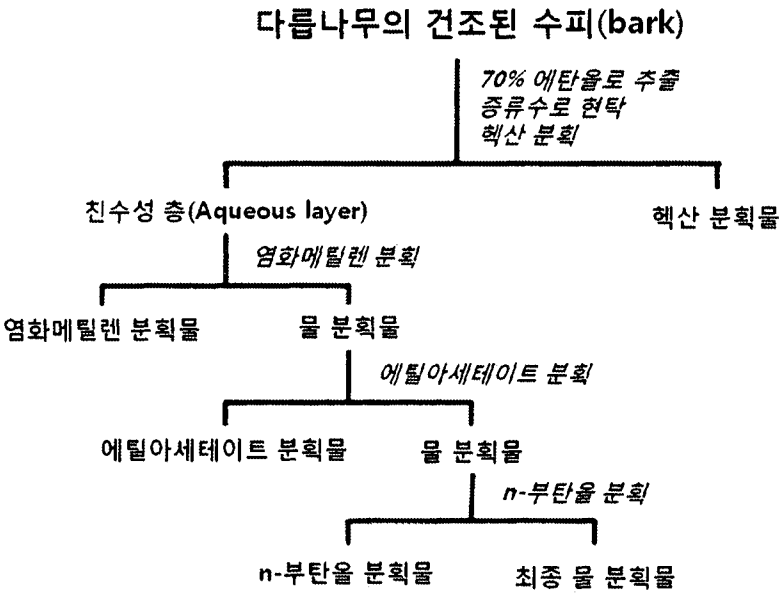
【청구항 26】

하기의 화학식 1로 표시되는 텍토리딘(Tectoridin), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 갑상선 질환 예방 또는 개선용 건강식품의 제조에 이용하기 위한 용도.

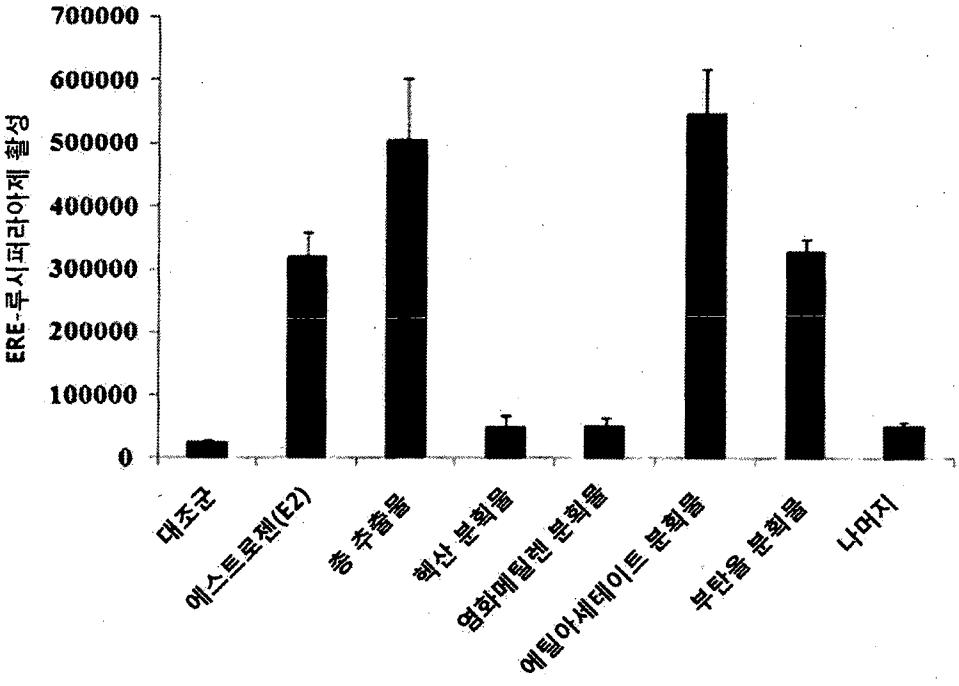
[화학식 1]



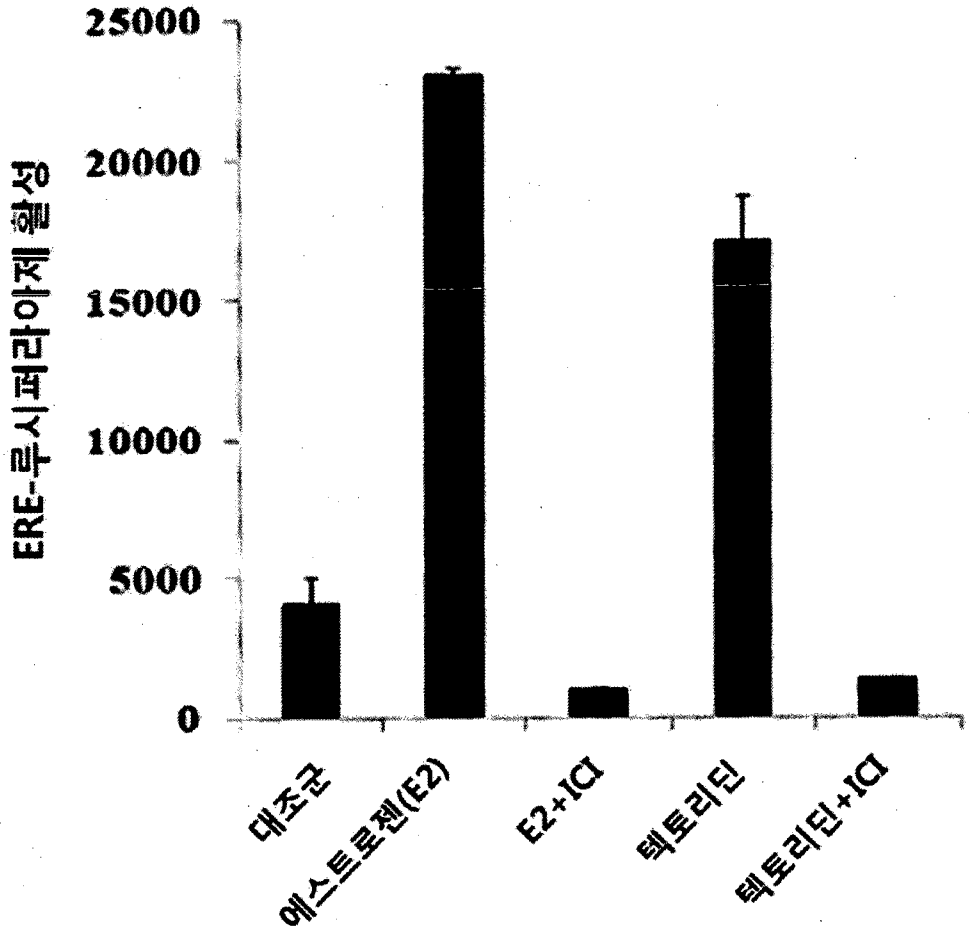
[도 1]


다릅나무의 건조된 수피(bark)
70% 에탄올로 추출
증류수로 현탁
헥산 분획
친수성 층(Aqueous layer)
헥산 분획물
염화메틸렌 분획
염화메틸렌 분획물
물 분획물
에틸아세테이트 분획
에틸아세테이트 분획물
물 분획물
n-부탄올 분획
n-부탄올 분획물
최종 물 분획물

[도 2]

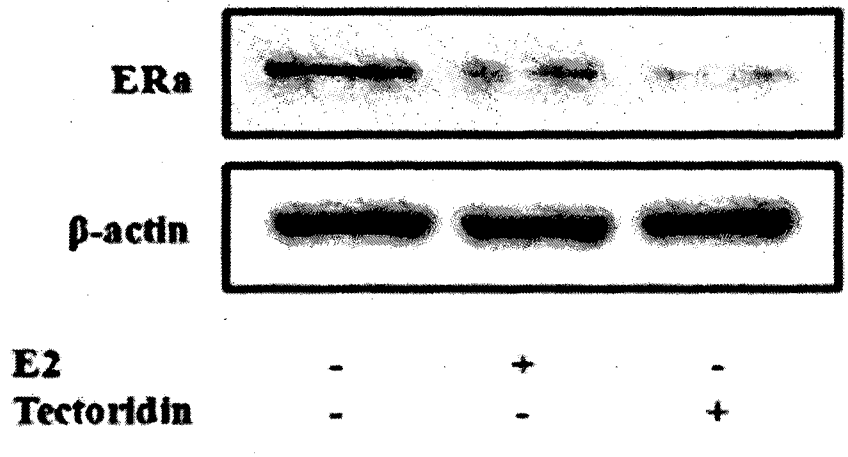

ERE-루시퍼라아제 활성
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
대조군
에스트로젠(E2)
총 추출물
헥산 분획물
염화메틸렌 분획물
에틸아세테이트 분획물
부탄올 분획물
나머지

[도 3]

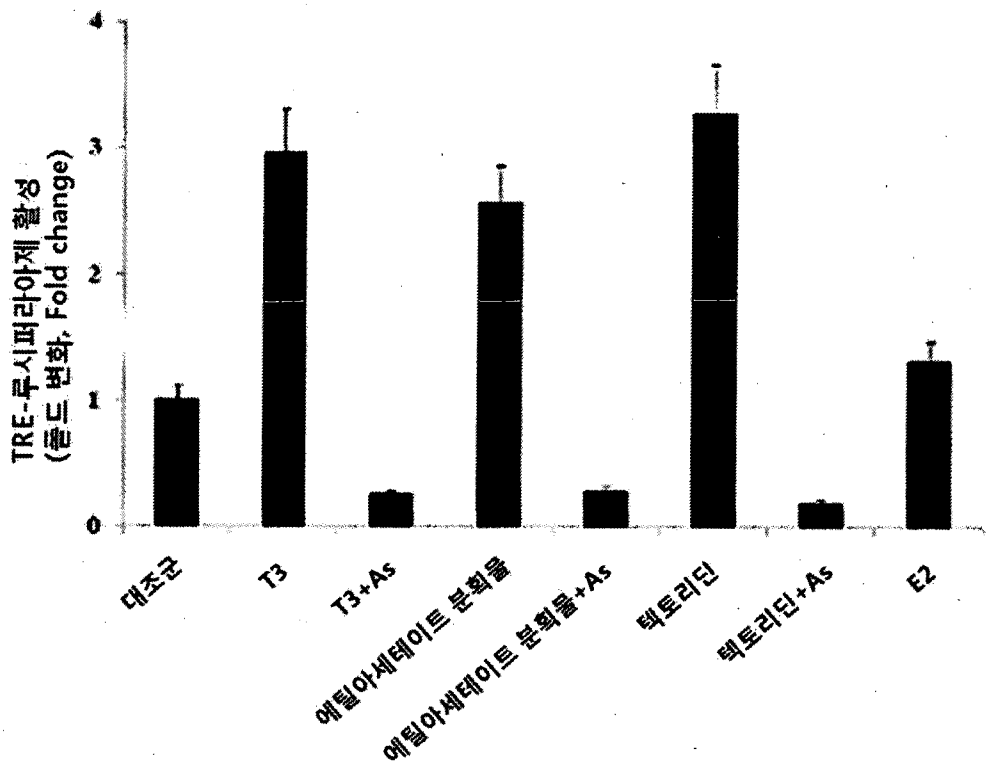

ERE-루시퍼라아제 활성
25000
20000
15000
10000
5000
0
대조군
에스트로젠(E2)
E2+ICI
텍토리딘
텍토리딘+ICI

[도 4]

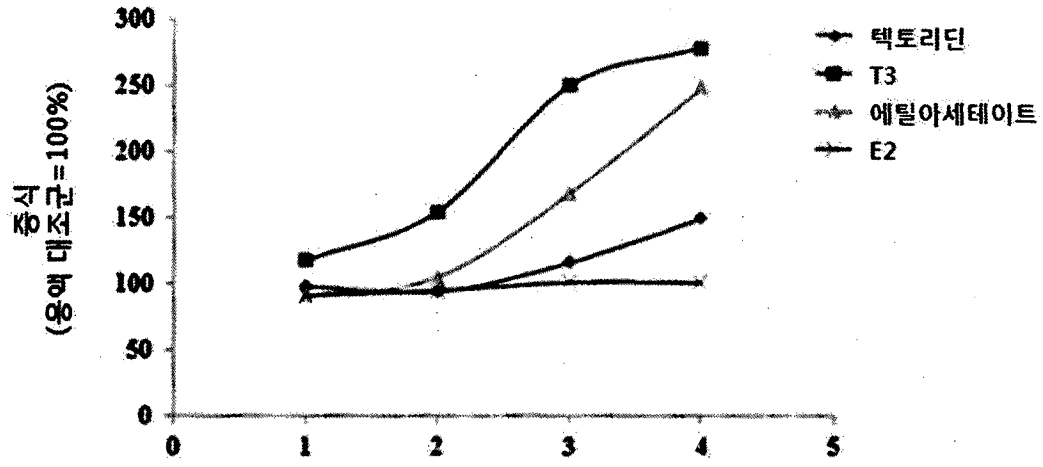




[도 5]


TRE-루시퍼라아제 활성
(폴드 변화, Fold change)
4
3
2
1
0
대조군
T3
T3+As
에틸아세테이트 분획물
에틸아세테이트 분획물+As
텍토리딘
텍토리딘+As
E2

[도 6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2014/005966

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/48(2006.01)i, A61P 5/14(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 36/48; A61P 15/12; A23L 1/29; A23L 1/30; A61P 5/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), PubMed, NCBI, Esp@snet, PAJ, USPTO, Google & Keywords: Maackia amurensis Rupr., fraction, Tectoridin, thyroid disease, therapy, refine, prevention, bark

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2011-0029048 A (PARK, Eu Sin) 22 March 2011 See abstract, paragraphs [0004], [0006]-[0007]	1,7,13,15
Y		2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
Y	CN 102935104 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 20 February 2013 See abstract, paragraphs [0012]-[0019]	2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
A		1,7,13,15
Y	ANA PAULA SANTIN et al., Role of Estrogen in Thyroid Function and Growth Regulation. Journal of Thyroid Research. Epub 04 May 2011, doi: 10.4061/2011/875125, pages 1-7 See abstract, page 3 paragraph 2.2, pages 3-4 paragraph 3.2, conclusion part, table 4	2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
A		1,7,13,15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 OCTOBER 2014 (27.10.2014)	**27 OCTOBER 2014 (27.10.2014)**
Name and mailing address of the ISA/**KR** Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2014/005966

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **6, 11, 22**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 6, 11, 12 pertain to a method for treatment of the human by surgery or therapy, or to a diagnostic method, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2014/005966

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0029048 A	22/03/2011	NONE	
CN102935104 A	20/02/2013	NONE	

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2014/005966

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 36/48(2006.01)i, A61P 5/14(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 36/48; A61P 15/12; A23L 1/29; A23L 1/30; A61P 5/14

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(KIPO internal), PubMed, NCBI, Esp@snet, PAJ, USPTO, Google & 키워드: 다릅나무 추출물, 분획물,텍토리딘, 갑상선 질환, 치료, 개선, 예방, 수피

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2011-0029048 A (박의신) 2011.03.22. 요약, 단락 [0004], [0006]-[0007] 참조	1,7,13,15
Y		2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
Y	CN 102935104 A (SHENYANG PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 2013.02.20. 요약, 단락 [0012]-[0019] 참조	2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
A		1,7,13,15
Y	ANA PAULA SANTIN 외 1명, Role of Estrogen in Thyroid Function and Growth Regulation. Journal of Thyroid Research. Epub 2011.05.04., doi: 10.4061/2011/875125, 1-7쪽 요약, 3쪽 2.2 단락, 3-4쪽 3.2 단락, Conclusion 부분, Table 4 참조	2-5,8-10,12,14 ,16-21,23-26
A		1,7,13,15

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2014년 10월 27일 (27.10.2014)	2014년 10월 27일 (27.10.2014)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관
김범수
전화번호 +82-42-481-5412

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2014/005966

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 제6항, 제11항, 제22항
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 제6항, 제11항, 제22항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료 및 진단방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.

2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.

3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.

4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에 관한 기재

☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.

☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.

☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2014/005966

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0029048 A	2011/03/22	없음	
CN102935104 A	2013/02/20	없음	